

## Sigaranın insan sperminde histonun protamine anormal dönüşümüyle ilişkilendirilmesi

Bolan Yu, et al.

Fertility and Sterility, Jan 2014

Sigara kullanımı erkek infertilitesi için önemli bir risk faktörüdür. Yüksek konsantrasyonda serbest radikal içeren sigara dumanı plazma membranındaki yüksek çoklu doymamış yağ asidi konsantrasyonu nedeniyle spermatozoaya daha fazla oksidatif hasar vermektedir.

Protaminler matür spermde en fazla bulunan nükleoproteindir. İnsanlarda SP1 ve SP2 olarak iki tipi bulunur. Bu proteinler yüksek arginin ve sistein içeriğiyle insan somatik hücrelerine göre sperm DNA sının daha sıkı paketlenmesini sağlarlar. Histon transizyonu ve protamin ekspresyonu bozuklukları insanda erkek infertilite sebebi olarak gösterilmiştir. İnsan sperminde histon-protamin değişim oranı yaklaşık % 85 tamamlanmış ve SP1:SP2 oranı 1:1'dir. İnferertil erkeklerde ise histondan protamine değişim oranında artış bildirilmiştir. Ayrıca anormal SP1/SP2 oranlarının sperm konsantrasyonu, motilite ve morfolojisine olumsuz etkileri mevcuttur. Bu çalışmada ise sigaranın sperm kalitesine ve matür spermdeki histon transizyonuna etkisi araştırılmıştır.

On yıldan fazladır günde  $\geq 1$  paket ve ya 5 yıldan fazladır günde 2 paket sigara kullanan ve hiç sigara kullanmamış kişiler karşılaştırılmıştır. Tüm vakalara fizik muayene ve en az iki kez semen analizi yapılmıştır. Sperm kalitesini etkileyebilecek bir hastalığa sahip ya da farklı bir patolojiye ya da bilinen genetik bir bozukluğa bağlı azospermi, ciddi oligozoospermi, hematospermi, lökospermi ya da nekrozoospermi mevcut hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışmaya 147 ağır sigara kullanımı olan kişi ve 175 sigara kullanmayan kişi dahil edilmiştir. Semen örnekleri 2-7 gün cinsel perhiz sonrası mastürbasyonla elde edildi. Semen hacmi, pH, sperm konsantrasyonu, canlılık ve hareketlilik, bilgisayar destekli semen analizi Dünya Sağlık Örgütü kılavuzlarına göre analiz edildi. Histondan protamine değişim her örnekten bir parça alınarak hemen analiz edildi. Örneğin diğer kısmı ise santrifüje edilerek seminal plazma ve hücreler ayrıldı. Seminal plazma kotinin düzeyi ELISA

ile saptandı. Total RNA RNeasy Plus Universal Mini Kit (Qiagen) ile izole edildi. Revers transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu ile RNA dan c DNA elde edildi ve GAPDH, SP1 ve SP2 genleri elde edildi. Histon—protamin oranı Nucleoprotein Transition Test Kit i ile ölçüldü. Anilin mavisi ile boyanma anormal histondan protamine transizyonu göstermekteydi. Serum kotinin düzeyleri ağır sigara kullanan grupta 203 ng/ml, sigara içmeyen grupta 5 ng/ml idi ( $p < 0,01$ ). Sperm sayıları ağır sigara kullanan grupta anlamlı düşük iken ( $p < 0,05$ ), sperm konsantrasyonu, semen hacmi, sperm motilitesi ve vitalitesinde anlamlı fark bulunmadı. Sperm nükleer histon-protamin transizyonu anilin mavisıyla boyama ile gösterildi. Ağır sigara kullanan grupta histon-protamin transizyonu anlamlı olarak yüksek saptandı ( $p < 0,01$ ). Bunun yanında iki grupta da astenozoospermik ve oligoastenozoospermik hastalarda histon protamin transizyonu anlamlı yüksek bulundu ( $p < 0,001$ ). Düşük sperm motilitesi ya da düşük sperm konsantrasyonu olan sigara içen grupta histon-protamin transizyonu oranı anlamlı yüksek bulundu ( $p < 0,01$ ) tüm normozoospermik hastalarda sigara içen grupta anormal histon-protamin oranı anlamlı yüksek bulundu ( $p < 0,05$ ). Histon-protamin transizyon oranı ile sperm parametreleri ve seminal kotinin düzeyleri arasında anlamlı ilişki bulundu. Pilot çalışmada TM3 hücrelerindeki antioksidan gen ekspresyonunun CSC stimülasyonundan etkilenebileceği gösterildi. (yayınlanmamış data). 10mc/ml CSC'ye maruz kalan TM3 hücrelerinde SP1 mRNA'nın SP2 mRNA ya oranı anlamlı yüksek bulundu, 0,1 mc/ml CSC'ye maruz kalanlarda anlamlı fark saptanmadı.

Ağır sigara kullanan ve sigara kullanmayan gruplar arasında histon-protamin transizyon oranı farkı sigara kullanımı ve defektif spermatogenezisin anormal histon-protamin transizyonunu ile ilişkili olduğu hipotezini desteklemektedir. Bu çalışma aynı zamanda normozoospermik ağır sigara kullanımı olan olgularda da histon-pro-

tamin transizyon oranlarında artış olduğunu göstermiştir. Sigaranın indüklediği protamin anomalilerinde moleküler mekanizma henüz net değildir. Çalışmamızın sonuçlarına göre sigara mRNA düzeyleri üzerinden protamin sentezini artırıyor görünmektedir. Benzer sonuçlara önceki çalışmalarda da ulaşılmıştır.

Bu çalışmada sigara kullanımının ve defektif semen ka-

litesinin histon-protamin transizyon oranı ile güçlü ilişkili olduğu ve sigaranın protamin mRNA transkripsiyonunu artırdığı ve histon transizyonunu tetiklediği gösterilmiştir.

**Çeviri**

**Prof. Dr. Barış Altay, Dr. Mehmet Şahin**

**Ege Üniversitesi Hastanesi Üroloji ABD**